

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS ÁGRARIAS E DE TECNOLOGIA
CURSO DE AGRONOMIA

PRODUÇÃO DE MUDAS DE MORANGO (*FRAGARIA X ANANASSA*) INOCULADOS
COM DIFERENTES ESTIRPES DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *AZOSPIRILLUM*

GISLAINE DE RAMOS POMMER

PONTA GROSSA
2025

GISLAINE DE RAMOS POMMER

PRODUÇÃO DE MUDAS DE MORANGO (*FRAGARIA X ANANASSA*) INOCULADOS
COM DIFERENTES ESTIRPES DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *AZOSPIRILLUM*

Trabalho apresentado à Disciplina OTCC
como requisito parcial para obtenção de
Grau de Engenharia Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio
Ayub

PONTA GROSSA

2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
COLEGIADO DO CURSO DE AGRONOMIA
COORDENAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

OTCC - Ano 2025

AVALIAÇÃO DE TCC
RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA

Título da Monografia: Produção de mudas de morango (Fragaria x Ananás) inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero Agrobacterium

Autor (a): Isidore de Ramos POMMER

Data da defesa: 23/05/2024 Horário: 13:30 Local: F: 41

Avaliadores:

1-Orientador (a): Rinaldo Atonio Aguiar Assinatura: [assinatura]

2-Avaliador (a): Jonane S. Silva Batista Assinatura: [assinatura]

3-Avaliador (a): Robyemari V. Albano Assinatura: [assinatura]

Itens a serem avaliados	Notas atribuídas		
	Orientador(a)	1º Avaliador(a)	2º Avaliador(a)
I- Apresentação oral (Até 2,0)	1,0	1,0	2,0
II- Trabalho escrito (Até 6,0)	5,0	4,0	4,5
III- Arguição (Até 2,0)	1,0	2,0	1,5
TOTAL	7,0	7,0	8,0
MÉDIA FINAL *	7,3		

* Orientador(a) nota final com uma casa após a vírgula

Atenção Professor(a) ORIENTADOR(A):

No caso de apresentação de trabalho, em evento técnico-científico, no qual o acadêmico conste como autor, poderá ser acrescentado ATÉ 10% da nota, na somatória final. Apresentar comprovante junto com os documentos entregues para a Coordenação de TCC.

FORMULÁRIO 4
OTCC
AGRONOMIA

Dedico à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida, por estar sempre comigo, me fazendo seguir em frente apesar de todo e qualquer obstáculo que encontre pela frente e não me deixar desistir. Por me mostrar que tudo na vida acontece por um motivo e que é tudo no tempo dele, mas no final tudo se acerta, nem sempre da forma que esperamos, mas às vezes de formas surpreendentes que nunca imaginamos acontecer.

Aos meus pais, Doralice e Sigmar, por sempre estarem do meu lado me apoiando em tudo e nunca me deixar desistir dos meus sonhos e objetivos. Por todo amor e carinho que sempre tiveram por mim e por todos os conselhos que me dera, me ajudando a moldar a pessoa que sou hoje. E por serem meus maiores exemplos de determinação na vida, que através de honestidade e muito trabalho debaixo de sol e chuva, tornaram possível para que hoje estivesse aqui, sempre me apoiando para que eu nunca desistisse e que independente de qualquer coisa sempre estariam ao meu lado.

Ao meu noivo, que estive ao meu lado, sempre me dando apoio e forças para continuar. Tornando essa fase mais leve, sempre acreditando no meu potencial e fazendo eu mesmo acreditar no meu potencial quando até eu mesma não acreditava.

A minha família, por todo amor e carinho. A minha irmã Daiane, por ser exemplo como irmã mais velha, sempre me apoiando nos momentos mais difíceis da minha vida e por me dado a honra de ser tia do Arthur e Heitor. A minha irmã Camila, por me permitir ser uma pessoa determinada para que algum dia possa se inspirar em mim como exemplo de irmã mais velha.

Aos meus amigos que fiz durante essa jornada, que fizeram essa fase mais leve, que pude dividir alegrias e tristezas.

A técnica do laboratório Raphaela, na ajuda nos experimentos e análises, me auxiliando no laboratório sempre que precisei. Pelos conselhos e por todas as conversas que tivemos nos momentos difíceis.

A Dra. Helyemari Valentim Althaus, por transmitir um pouco do seu conhecimento e me auxiliando na condução do experimento.

Ao Dr. Ricardo Antônio Ayub, por ter aceito ser meu orientador e aberto as portas do laboratório e pela disposição em sempre me auxiliar sempre que necessário.

A banca, por ter aceitado fazer parte desse momento importante na minha vida acadêmica.

A Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao curso de agronomia, pelo ensino gratuito e de qualidade que contribuíram para a minha formação.

RESUMO

POMMER.R.G. **Produção de mudas de morango inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum***. Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Ayub. Ponta Grossa, 2025. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025.

O morango (*Fragaria* × *ananassa*) é uma das principais frutíferas de pequeno porte a ser produzida, devido ao seu sabor agradável, sua ampla utilização na culinária e os benefícios à saúde. O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal vem ganhando destaque ao longo dos anos, principalmente as fixadoras de nitrogênio, sendo o gênero *Azospirillum* um dos mais utilizados na cultura do morangueiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes estirpes de *Azospirillum spp.* sobre a produção de mudas de morangueiro, em sistema de cultivo protegido. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos: *Azospirillum brasilense* HM053, *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum argentinense* Az39 e testemunha, conduzido na Universidade Estadual de Ponta Grossa em sala de crescimento vegetal e casa de vegetação. Os explantes de morangueiro foram multiplicados por propagação *in vitro* e mantidos em sala de crescimento até o estabelecimento das plântulas. Em seguida, foram transplantados para vasos de 3 litros contendo substrato. Foram utilizadas seis repetições por tratamento. As variáveis avaliadas foram: número de folhas, comprimento da parte aérea e raiz, diâmetro de copa, número de estolão, massa fresca e massa seca total entre outras variáveis. Além das análises físicas, foi realizada a contagem de colônias bacterianas a partir de diluições seriadas decimais (10^{-1} a 10^{-6}) de amostras das raízes da planta matriz, das plantas filhas e dos estolões, cultivadas em placas de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Duncan, com nível de significância de 5%. Os resultados demonstraram que a estirpe HM053 apresentou desempenho superior na maioria das variáveis analisadas, enquanto a Az39 foi inferior em alguns parâmetros. Conclui-se que a resposta das plantas depende da estirpe utilizada, sendo a HM053 a mais eficiente neste experimento.

Palavras chaves: *Fragaria* × *ananassa*; *Azospirillum*; bactérias; *in vitro*; nitrogênio.

ABSTRACT

POMMER, R.G. **Production of strawberry seedlings inoculated with different strains of bacteria of the genus *Azospirillum***. Advisor: Prof. Dr. Ricardo Antônio Ayub. Ponta Grossa, 2025. Undergraduate thesis (Bachelor's Degree in Agronomy) – State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025.

Strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) is one of the main small fruit crops grown due to its pleasant taste, wide culinary use, and health benefits. The use of plant growth-promoting bacteria has gained prominence over the years, especially nitrogen-fixing ones, with the genus *Azospirillum* being among the most widely used in strawberry cultivation. The aim of this study was to evaluate the effect of different *Azospirillum* spp. strains on the production of strawberry plantlets in a protected cultivation system. The experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments: *Azospirillum brasilense* HM053, *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum argentinense* Az39, and a control, carried out at the State University of Ponta Grossa in a growth room and greenhouse. Strawberry explants were multiplied by in vitro propagation and maintained in a growth room until seedling establishment. Subsequently, they were transplanted into 3-liter pots containing substrate. Six replicates were used per treatment. The evaluated variables included: number of leaves, shoot and root length, canopy diameter, number of stolons, fresh and dry total mass, among others. In addition to physical analyses, bacterial colony counts were performed using decimal serial dilutions (10^{-1} to 10^{-6}) of samples from the roots of the mother plant, daughter plants, and stolons, cultured in Petri dishes. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Duncan's test, at a 5% significance level. The results showed that strain HM053 had superior performance in most of the analyzed variables, while Az39 performed worse in some parameters. It was concluded that plant response depends on the strain used, with HM053 being the most efficient in this experiment.

Keywords: *Fragaria* × *ananassa*; *Azospirillum*; bacteria; *in vitro*; nitrogen.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Explante de morango replicado pela técnica de cultura de tecidos vegetal in vitro.	17
FIGURA 2 - Na imagem a esquerda é possível observar mudas no processo de aclimação com plástico envolto formando um microclima e na imagem a direita mudas aclimatadas se adaptando ao ambiente sem o microclima.....	19
FIGURA 3 - Na imagem a esquerda do canto superior plantas começando a emitir estolões, a direita plantas ao final do experimento com todos os estolões emitidos e a imagem abaixo mostra as plantas no início do experimento sem emissão de estolão.	20
FIGURA 4 - Planta-mãe de cada tratamento e seus respectivos estolões.	21
FIGURA 5 - Imagem a esquerda no campo superior realizando a pesagem de raízes, a direita realizando o corte dos estolões para preparo da diluição seriada e imagem abaixo mostrando a separação dos estolões 1, 2 e 3 para formar as análises compostas.....	22
FIGURA 6 - Colônias de bactérias e seus respectivos tratamentos.	24
FIGURA 7 - Imagem a esquerda colônias de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i> e a direita colônia de outro gênero de bactéria na testemunha.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de estolões na produção de mudas em morangos (<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>) realizados em casa de vegetação.	25
Tabela 2 - Números de trifólios em morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	26
Tabela 3 - Comprimento de raiz de morango (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	26
Tabela 4 - Comprimento da parte aérea da planta-mãe de morango (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	27
Tabela 5 - Diâmetro de copa de planta-mãe de morango (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	27
Tabela 6 - Massa fresca total de plantas e estolão de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	28
Tabela 7 - Massa fresca de estolão de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	28
Tabela 8 - Massa fresca da raiz de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	29
Tabela 9 - Massa fresca planta-mãe de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	29
Tabela 10 - Massa seca de estolão de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	30
Tabela 11 - Massa seca de raiz de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	30
Tabela 12 - Massa seca parte aérea de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	31
Tabela 13 - Massa seca total de plantas e estolão de morangos (<i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i>), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	31
Tabela 14 - Recuperação de colônias de bactérias do gênero <i>Azospirillum</i> por meio de plaqueamento utilizando meio RC.	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 CULTURA DO MORANGO.....	10
2.2. PRODUÇÃO DE MUDAS DE MORANGUEIROS	11
2.2.1 Produção de Mudas <i>in vitro</i>	12
2.3. INOCULAÇÃO COM BACTERIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO	13
3.OBJETIVOS.....	15
3.1 OBJETIVO GERAL	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4. HIPÓTESES	16
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1. CULTIVO <i>IN VITRO</i>	17
5.2. ACLIMATAÇÃO DAS MUDAS	18
5.3. CASA DE VEGETAÇÃO	19
5.4. ANÁLISES FÍSICAS E BIOLÓGICAS.....	21
5.5 TESTES ESTATÍSTICOS	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
7. CONCLUSÃO.....	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUÇÃO

A cultura do morango (*Fragaria* × *ananassa*), apresenta elevada importância econômica em diversos países, devido a sua diversidade de usos. Por apresentar sabor agradável pode ser consumido *in natura*, em receitas de bolos, tortas, sorvetes, geleias e compotas, sucos e iogurtes, cosméticos, etc. Além da sua ampla forma de consumo que impulsiona a alta demanda, também traz inúmeros benefícios a saúde, auxiliando no fortalecimento do sistema imunológico, combate radicais livres, auxilia na digestão, melhora a saúde vascular e previne doenças.

A produção mundial de morango em 2023 foi de aproximadamente 10,5 milhões de toneladas, sendo a China o maior produtor, seguido dos Estados Unidos e Egito. Já no Brasil a produção foi de aproximadamente 183 mil toneladas, mantendo o país entre os 10 maiores produtores do mundo, ocupando a 9ª posição (FAO, 2023). A produção de frutíferas irrigadas no Brasil vem crescendo cada vez mais, com destaque para a produção de pequenas frutas, como é o caso do morango, devido a sua versatilidade de consumo.

A produção de mudas de morangos ocorre de forma vegetativa através de estolões que a planta-mãe emite lateralmente, uma única matriz pode produzir inúmeras plantas-filhas, podendo ser emitidos vários estolões do mesmo nó. Os quais ao entrarem em contato com o solo ou substrato enraízam, dando origem a uma nova planta de morango.

Para se obter uma boa produtividade é necessário que as mudas sejam de qualidade, tanto fisiológica como fitossanitária. Sendo usualmente utilizada a técnica de propagação de cultura de tecidos *in vitro*, onde é possível a obtenção de mudas esterilizadas, livres de doenças e pragas. Possibilitando também a propagação massal, utilizando um pequeno espaço físico, onde é possível a obtenção de inúmeras mudas em espaço pequeno e em um curto período de tempo, com a qualidade e quantidade desejada pelos produtores.

O nitrogênio é um dos mais importantes macros nutrientes, responsável pelo crescimento e desenvolvimento vegetal, sendo requerido em maior quantidade pelas plantas. Participando da formação da clorofila, pigmento responsável pela fotossíntese, o que é essencial para produção de energia da planta. O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal, como as do gênero *Azospirillum*, contribui para a fixação biológica do nitrogênio, tornando a produção agrícola mais sustentável, rentável e menos dependente de fertilizantes químicos à base de nitrogênio.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DO MORANGO

O Morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch), pertence à família Rosaceae, com hábito de crescimento rasteiro (Grosso *et al.*, 1997; Tessarioli *et al.*, 2003). É uma planta de espécie de clima temperado, onde sua forma de propagação é através de estolões. A parte comestível do fruto se origina a partir do receptáculo floral, na maturação ficando carnoso e suculento, os frutos verdadeiros são os aquênios, resultado da fecundação dos óvulos (Hancock, 1999; Nunes, Novello, 2021). É uma planta que tem preferência por regiões mais frias, porém possui boa adaptação em regiões de clima seco e quente, no Brasil obteve uma adaptação ampla desde o Rio Grande do Sul até o sul de Minas Gerais (Santos, 1993; Tessarioli *et al.*, 2003).

Em regiões de clima subtropical a cultura do morango é pouco estudada. A janela de plantio das mudas tem o início em outubro, no verão ocorre o estolamento (sendo estimuladas pelo fotoperíodo longo e temperaturas elevadas), já a floração é estimulada por fotoperíodo curto e temperaturas amenas, sendo a colheita da primavera até início do verão (Heide, 1977; Rosa *et al.*, 2013). Dessa forma, faz-se necessário o estudo de diferentes cultivares, assim possibilitando a produção de cultivares precoce, com maior produtividade e qualidade.

Na produção de morango, é necessário o uso do mulching, que consiste na cobertura do solo, geralmente com plástico preto, por sua capacidade de reter mais calor. Essa prática tem como objetivo reduzir a incidência de plantas daninhas, diminuir a evapotranspiração. O que contribui para menor consumo de água na irrigação e proporcionar frutos mais limpos e de melhor qualidade (González *et al.*, 2005; Yuri *et al.*, 2012).

O cultivo do morango é realizado tradicionalmente em canteiros no solo, porém essa técnica de cultivo enfrenta problemas com agentes patogênicos presentes no solo, sendo a cultura altamente suscetível (Wang *et al.*, 2016; Schiavon *et al.*, 2021). Com isso, surge a alternativa de utilizar o cultivo sem solo, onde são feitas bancadas suspensas, utilizando substrato em ambiente protegido, com intuito de diminuir a incidência de pragas e doenças, também havendo um maior controle no fornecimento de nutrientes e água (Diel *et al.*, 2018; Nin *et al.*, 2018; Schiavon *et al.*, 2021). Dentre as práticas culturais na cultura do morango, a adubação é fundamental para que ocorra aumento na produção (Vignolo *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2013).

O nitrogênio (N), é o macronutriente requerido em maior quantidade pelas plantas e qual pode limitar o crescimento e desenvolvimento das plantas (Santos *et al.*, 2017). A

deficiência está relacionada redução da divisão e expansão celular, bem como a redução da área foliar, o que resulta em uma menor taxa fotossinteticamente ativa (Ghenov *et al.*, 2021). Sendo assim a fixação biológica de nitrogênio, responsável pela principal entrada do nutriente na planta (Döbereiner, 1992; Baca *et al.*, 2000; Baldani, 2005; Ghenov *et al.*, 2021).

O fosforo (P), é um macronutriente essencial para o morangueiro, participando no metabolismo de carboidratos e auxilia para manter a turgescência das folhas. Já o potássio (K), tem papel fundamental na formação de carboidratos das folhas e translocação desses assimilados para diversas partes da planta, em especial ao fruto, o que está diretamente relacionado a qualidade final do fruto (Prado, 2008; Souza *et al.*, 2014).

Em relação aos elementos benéficos, é utilizado o silício (Si) opcional para o produtor, sendo encontrado em segundo lugar como o mais abundante na crosta terrestre (REIS *et al.* 2007; Silva *et al.*, 2013). Seus benefícios conhecidos para o morangueiro estão relacionados as funções estruturais e defesa da planta, reduzindo o consumo de água, ataque de pragas e doenças, devido a dificuldade de penetrar no tecido da planta (Korndörfer, 2006; Silva *et al.*, 2013). Auxiliando também na arquitetura de plantas, proporcionando folhas mais eretas, capazes de aumentar a interceptação dos raios solares, ocorrendo aumento da taxa fotossintética, o que resulta maior crescimento e desenvolvimento dos órgãos vegetais (Taiz; Zeiger, 2004; Silva *et al.*, 2013).

Segundo dados da FAO, a área cultivada de morango no mundo todo em 2023 foi de 434.977 hectare, com a produtividade média de 24.105 Kg/ha, correspondendo a produção de 10.485.454 toneladas de morango colhida em todo o mundo. Já no Brasil a área cultivada de morango foi de 4.836 hectares, com a produtividade média de 38.835 Kg/ha, chegando a produção total de 187.795 toneladas produzidas no Brasil todo. (FAO, 2023). O Brasil vem se destacando na produção e exportação de frutíferas irrigadas, dentre elas, nas pequenas frutíferas, destaca-se a produção de morango, que vem se expandindo a cada ano (FAO, 2021; Souza *et al.*, 2024).

2.2. PRODUÇÃO DE MUDAS DE MORANGUEIROS

A reprodução do morango é de forma vegetativa através de estolão emitida pela planta matriz, sendo favorecida pelas altas temperaturas e dias longos. Outros fatores como umidade e intensidade da luz também tem influência na produção de estolão, porém possui uma significância menor (Galleta, Bringham, 1990; Tessarioli *et al.*, 2003).

O sucesso na produção de morangos depende do uso de mudas de qualidade, com ênfase na sanidade e no vigor fisiológico, ou seja, mudas saudáveis e livres de patógenos. Essa qualidade é influenciada pela escolha do método de produção, do substrato ou solo utilizado, além de fatores climáticos e nutricionais. (Schiavon *et al.*, 2021).

Os produtores de morango enfrentam várias limitações dentro do processo produtivo, sendo uma das principais a aquisição de mudas. As mudas disponíveis, oriundas de viveiristas locais apresentam baixa qualidade e quantidade, dessa forma os produtores se tornam dependentes do mercado externo de mudas, ocasionando atrasos na implantação e colheita (Zeist *et al.*, 2019 Laurett *et al.*, 2021).

A produção de mudas de morangueiros na região Sul do Brasil, tem com alternativa a importação de mudas da Argentina e Chile. Apresentando custos elevados e danos mecânicos as mudas durante o transporte, dessa forma as mudas poderão ter o desenvolvimento mais lento, não correspondendo ao seu potencial produtivo (Schmitt *et al.*, 2016).

A muda é um dos principais insumos na produção de morangos, estando ligada diretamente com a qualidade e produção dos frutos. Tendo como base para o investimento em tecnologia para a produção de mudas (Oliveira *et al.*, 2005; Oliveira, Scivittaro, 2009). Dessa forma faz-se necessário o investimento de mudas de qualidades com alto potencial produtivo e livre de patógenos.

2.2.1 Produção de Mudas *in vitro*

O uso da biotecnologia vegetal, com foco para propagação vegetal *in vitro* ou micropropagação, permite a produção de mudas de qualidade, livre de patógenos. Em um curto intervalo de tempo e em áreas pequenas, tornando possível a produção de mudas em larga escala (Rescarolli, Zaffari, 2009).

O sucesso da propagação vegetal *in vitro* é dependente de diversos fatores, como a variação genética, tamanho e tipo de explante, bem como o meio de cultura e concentrações de reguladores vegetais (Grattapaglia, Machado, 1998; Oliveira *et al.*, 2015). A citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é a mais utilizada, apresentando-se mais eficaz na multiplicação de diversas espécies, também apresentando menor custo para aquisição (Aragão *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2015).

O uso da técnica de produção de mudas por cultura de tecido vegetal, é fundamental para garantir a obtenção de mudas de qualidade, sem problemas fitossanitários e que atinja a

quantidade suficiente para suprir a necessidade dos produtores. Sendo mais utilizado a propagação *in vitro* (Souza *et al.*,2024).

As mudas de morangueiro podem ser produzidas tanto em viveiros no campo ou em cultivo sem solo, usando soluções nutritivas. No Brasil, as plantas matrizes são produzidas em laboratório utilizando a técnica de produção *in vitro*, que tem como finalidade garantir a sanidade das mudas e qualidade fisiológica. A multiplicação ocorre utilizando substrato esterilizados para evitar qualquer tipo de contaminação, utilizando o método de plug plant, que consiste em extrair as pontas dos estolões, que são plantadas em recipientes contendo substrato. (Giménez, Andriolo, Godoi, 2008). Sendo normalmente a cada dois nós, emitem folhas e enraízam (Verdial *et al.*,2007).

Na propagação *in vitro* do morangueiro, o cultivo consecutivo dos tecidos ocasiona a perda de vigor dos explantes após permanência de longos períodos, o que torna as respostas menores (Pasa *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*,2020). Por esse motivo é recomendado realizar no máximo cinco repicagens de morango durante a fase de multiplicação, evitando plantas diferentes das originais, ocasionados pela variação da soma clonal (Dutra *et al.*,2012; Ferreira *et al.*,2020).

2.3. INOCULAÇÃO COM BACTERIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) são usadas como inoculantes na agricultura. Promovendo a absorção de alguns nutrientes no solo, como ocorre com o nitrogênio (N), na fixação biológica de nitrogênio (Trivedi *et al.*,2020; Ferrarezi *et al.*,2022). O nitrogênio é o macro nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas, o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio diminui a necessidade de fertilizantes minerais como fonte de nitrogênio.

O sucesso na aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) depende de vários fatores. Em campo a ineficácia pode ser explicada por vários fatores bióticos e abióticos não controlados, reduzindo suas chances de sobrevivência. As bactérias também podem ser incompatíveis com outros produtos aplicados em plantações e até mesmo a microbiota associada à planta, prevalecendo em níveis baixos no solo, de forma que não seja o suficiente para a planta (French *et al.*,2021; Ferrarezi *et al.*,2022).

Os membros do gênero *Azospirillum* fazem parte do grupo de BPCV que afetam o crescimento e produtividade de inúmeras espécies vegetais (Dobbelaere *et al.*,2003; Guerrero-

Molina *et al.*, 2011). Também são conhecidas como bactérias da rizosfera, onde cada estirpe apresenta características específicas em relação a colonização. Colonizam preferencialmente as raízes, porém algumas estirpes são capazes de colonizar tecidos internos da planta (Steehnoutdt *et al.*, 2000; Guerrero-Molina *et al.*, 2011). No Brasil, o primeiro inoculante formulado com *Azospirillum brasilense* foi lançado em 2009, contendo a estirpe Ab-V5 e Ab-V6 (Santos *et al.*, 2021; Ferrarezi *et al.*, 2022).

No morangueiro apresentam a atividade de fixação de nitrogênio e capacidade de crescimento das plantas (Pedraza *et al.*, 2010, Guerrero-Molina *et al.*, 2011). A colonização das raízes é essencial para a interação entre plantas e *Azospirillum*, a colonização eficaz das raízes pode aumentar a chance do *Azospirillum* de também colonizar os tecidos internos da planta, podendo ser transferido via estolão para as plantas filhas. Assim, uma única aplicação da bactéria permitiria aos produtores obter várias gerações de mudas já inoculadas pelo microrganismo, com melhores condições para o plantio no campo (Guerrero-Molina *et al.*, 2011).

O *Azospirillum argentinense*, foi registrando em 1996 na argentina como o primeiro inoculante, essa estirpe foi isolada de raízes de trigo e esterilizadas na superfície (Rodriguez *et al.*, 2008; Maroniche *et al.*, 2024). Por sua eficácia em aumentar a produtividade do milho e do trigo no campo, a cepa Az39 T é a mais usada em inoculantes registrados, presente em cerca de 75% dos produtos na América do Sul. Ela é considerada uma cepa de referência para estudos de bactérias promotoras de crescimento (Cassán *et al.*, 2020; Maroniche *et al.*, 2024). Os benefícios das plantas inoculadas são explicados pelo aumento no sistema radicular (Dobbelaere *et al.*, 1999; Maroniche *et al.*, 2024).

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Produzir mudas saudáveis de morangueiros a partir de matrizes cultivadas por cultura de tecidos e inoculadas com *Azospirillum brasilense* HM053, *Azospirillum, brasilense* Ab-V5 e *Azospirillum argentinense* AZ39.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cultivar mudas matrizes de morangueiro *in vitro* por cultura de tecidos a partir de aquênios;

Inocular as plantas matrizes com as estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum argentinense*;

Obter mudas saudáveis a partir das plantas matrizes;

Observar a colonização dessas mudas por *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum argentinense*;

Comprovar o deslocamento das estirpes da planta mãe para as plantas filhas.

4. HIPÓTESES

As plantas inoculadas com *Azospirillum* deverão apresentar um maior número de estolões e de melhor qualidade.

As plantas-filhas já estejam inoculadas, sendo transmitido o *Azospirillum* das plantas-mães para as plantas-filhas.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em dois locais diferentes: I. sala de crescimento vegetal no laboratório de biotecnologia voltada a fruticultura, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, Paraná, no período de 16 de agosto de 2024 a 20 de setembro de 2024. II. Casa de vegetação, conduzido na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, Paraná, no período de 14 de outubro de 2024 a 10 de fevereiro de 2025. Foi utilizada a cultivar Florida Festival, cultivados em vasos de 3 litros. Foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo sorteado aleatoriamente os vasos através do software R, cada parcela corresponde a um vaso de 3 litros, sendo ao todo 24 vasos.

5.1. CULTIVO *IN VITRO*

Os morangos foram replicados usando a técnica de cultivo *in vitro* no dia 16 de agosto de 2024. Para a replicação no cultivo *in vitro* das explantes, foi utilizado o meio de cultura Murashige e Skoog (MS), conforme descrito por Murashige & Skoog (1962), preparado com base nas soluções estoque de macronutrientes, micronutrientes, ferro, vitaminas e compostos orgânicos, seguindo a metodologia descrita por Caldas et al. (1998).

Junto ao meio MS foi adicionado o hormônio BAP na concentração de 1 ml/L, o qual auxilia no enraizamento das mudas. Após preparo dos meios de cultura, 20 ml foram vertido em frascos de 200 ml, volume suficiente para desenvolvimento dos explantes. Na sequência, os frascos foram esterilizados por autoclavação por 20 minutos a 120°C. Os frascos foram armazenados por, no máximo, 15 dias até o uso.

Figura 1 - Explante de morango replicado pela técnica de cultura de tecidos vegetal *in vitro*.



Fonte: A autora

Os aquênios de frutos da cultivar festival, obtidos de matrizes do laboratório foram esterilizados e semeados, inoculados em meio MS/2, 60 dias depois, surgiram as folhas e quando esses estavam em tamanho ideal, foi feita a primeira repicagem.

O processo de replicação do material vegetal foi realizado no fluxo laminar para que não ocorra contaminações externas. Os materiais utilizados foram: placas de petri, pinças, bisturi, lâminas, lamparina, álcool 90% e o meio de cultura, os quais foram posicionados no fluxo laminar. E em seguida os morangos que se encontram na sala de cultivo para serem utilizados na replicação.

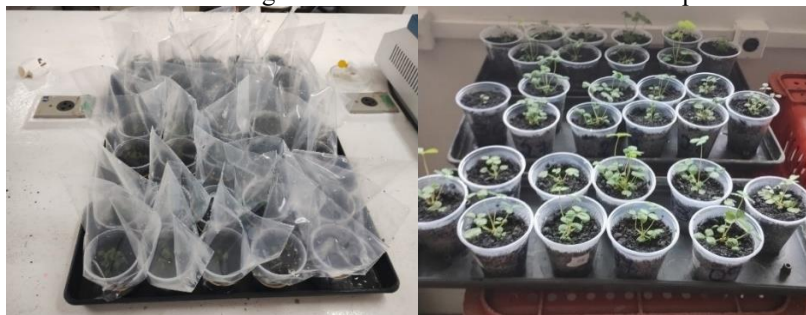
Para a replicação dos morangos foram cortadas partes do caule da planta, cerca de 1cm, o qual são posicionados em frascos contendo o meio de cultura, em cada frasco são colocados 5 micros estacas, que darão origem a 5 novas plantas. Após o processo de micro propagação vegetal, os materiais replicados foram armazenados na sala de crescimento, na temperatura constante de 25°C e com luminosidade 24 horas por dia. Pelo período suficiente para que desenvolvam raízes e folhas, o que foram de aproximadamente 30 dias.

5.2. ACLIMATAÇÃO DAS MUDAS

O período para o enraizamento e desenvolvimento de folhas, foi de 16 de agosto de 2024 a 20 de setembro de 2024, correspondendo a exatamente 35 dias, onde já estava com as mudas estabelecidas e prontas para o processo de aclimação. A aclimação das mudas ocorreu do período de 20 de setembro de 2024 a 12 de outubro de 2024, o período total de aclimação foi de 22 dias, desse período, 12 dias ficaram recobertos com plástico e 10 dias sem o plástico, ficando em temperatura ambiente no laboratório.

As mudas foram retiradas do frasco contendo o meio de cultura para copos plásticos, contendo substrato, esses copos precisavam ter furos embaixo e eram envoltos com um saco plástico para não perder umidade para o ambiente, criando um micro clima favorável para adaptação das mudas fora da sala de crescimento. O fornecimento de água foi realizado por capilaridade, com o auxílio de uma bandeja com água, de acordo com as necessidades da planta. Esse processo faz-se necessário para que ocorra a adaptação das mudas ao ambiente, sem que ocorra estresses significativos, auxiliando no pagamento da muda fora do ambiente controlado.

Figura 2 - Na imagem a esquerda é possível observar mudas no processo de aclimação com plástico envolto formando um microclima e na imagem a direita mudas aclimatadas se adaptando ao ambiente sem o microclima.



Fonte: A autora

5.3. CASA DE VEGETAÇÃO

No dia 12 de outubro de 2024, as plantas foram transferidas para vasos de 3 litros, onde permaneceram 2 dias no laboratório, para diminuir o estresse causado pelo transplante, após esse período foram transferidos para casa de vegetal. O experimento foi conduzido na casa de vegetal no período de 14 de outubro de 2024 até o dia 10 de fevereiro de 2025, onde as plantas foram submetidas as análises físicas.

Os morangos ficaram na casa de vegetação no período de 7 dias para que ocorresse o período de adaptação das plantas, passando esse período os morangos foram inoculados com as bactérias do gênero *Azospirillum*, no dia 21 de outubro de 2024. Ao todo foram utilizadas 24 plantas para realização do experimento, sendo elas: tratamento 1 com *Azospirillum brasilense* HM053, tratamento 2 com *Azospirillum brasilense* Ab-V5, tratamento 3 com *Azospirillum argentinense* AZ39 e o tratamento 4 foi a testemunha, onde não foi inoculada nenhuma bactéria.

Os inoculantes foram preparados no Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, Paraná, onde colônias isoladas de *Azospirillum brasilense* HM053, *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e *Azospirillum argentinense* AZ39 foram obtidas a partir de estoques em vermelho congo (RC) (Rodriguez-Cáceres, 1982). Uma colônia de cada estirpe foi inoculada, individualmente, em 2 ml de meio NFB lactato líquido (Machado *et al.*, 1991; Baldani *et al.*, 2014) suplementado com 50 mM de solução de fosfato, 20 mM de cloreto de amônia (NH₄Cl) e 100 µg.ml⁻¹ de biotina. Também foram acrescidos os antibióticos ácido nalidíxico (10 µg ml⁻¹) e estreptomicina (80 µg ml⁻¹).

Após 48 horas sob agitação orbital a 180 rpm a 28 °C, 100 microlitro de cada cultura bacteriana foi inoculada, individualmente, em 2 ml de meio NFB lactato, suplementado como

citado acima, contudo, sem adição dos antibióticos, formando pré-inóculos bacterianos puros. Seguidas 24 horas sob agitação orbital, a 28 °C, os inoculantes foram preparados a partir de 200 microlitros de cada pré-inóculo e inoculados, individualmente, em 50 ml de meio líquido NFB lactato, suplementado com 50 mM de solução de fosfato, 20 mM de cloreto de amônia (NH₄Cl) e 100 µg.ml⁻¹ de biotina, em frascos Erlenmeyer de 250 ml, mantidos sob agitador orbital a 180 rpm e 28 °C durante 24 horas para Ab-V5, 28 horas para HM053 e 30 horas para Az39. A concentração bacteriana final para inoculação das plantas foi ajustada para 10⁹ UFC.ml⁻¹ (DO 600nm ~1.0).

A inoculação nas plantas de morangos, foram realizadas de forma líquida, sendo usada 1ml do respectivo inoculante contendo as bactérias, em cada vaso próximo as raízes das plantas. Durante a condução do experimento a cada 15 dias eram realizadas a adubação das plantas com a solução de Hoagland sem adição de nitrogênio, sendo utilizada 100ml da solução para cada vaso de planta. Também foi realizada duas aplicações de inseticida biológico contendo o fungo *Beauveria bassiana*, para o controle de mosca branca e pulgão.

Figura 3 - Na imagem a esquerda do canto superior plantas começando a emitir estolões, a direita plantas ao final do experimento com todos os estolões emitidos e a imagem abaixo mostra as plantas no início do experimento sem emissão de estolão.



Fonte: A autora

5.4. ANÁLISES FÍSICAS E BIOLÓGICAS

Para realizar as análises físicas foram retiradas cuidadosamente todas as plantas mães e filhas dos vasos com as raízes e posteriormente avaliado as seguintes variáveis: número de estolões por planta, número de folhas, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, diâmetro de copa, massa fresca da parte aérea e massa fresca de raiz de cada planta mãe, massa fresca dos estolões e massa fresca total, bem como a massa seca de raiz, parte aérea, estolões e massa seca total.

Figura 4 - Planta-mãe de cada tratamento e seus respectivos estolões.



Fonte: A autora

Posteriormente foram separados 500 miligramas de cada raiz principal e congelado gradativamente para avaliar a colonização das bactérias. Os estolões foram avaliados até o terceiro estolão, sendo assim, foram separados os estolões 1, 2 e 3. Em seguida, foi formada uma amostra composta com três segmentos de cada estolão, retirados das duas extremidades e do centro. O mesmo procedimento foi aplicado às raízes, coletando-se uma porção da raiz do estolão de cada planta filha. As amostras compostas foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas sob congelamento, sendo posteriormente utilizadas na colonização das bactérias.

As amostras de raízes e parte aérea da planta mãe e os estolões que não forma armazenados no freezer, foram colocados no shaker de chão para secagem, na temperatura de 40°C por 7 dias, após esse período novamente foi realizado a pesagem das raízes e parte aérea da planta mãe e dos estolões e massa total para determinar a massa seca de ambos.

Figura 5 - Imagem a esquerda no campo superior realizando a pesagem de raízes, a direita realizando o corte dos estolões para preparo da diluição seriada e imagem abaixo mostrando a separação dos estolões 1, 2 e 3 para formar as análises compostas.



Fonte: A autora

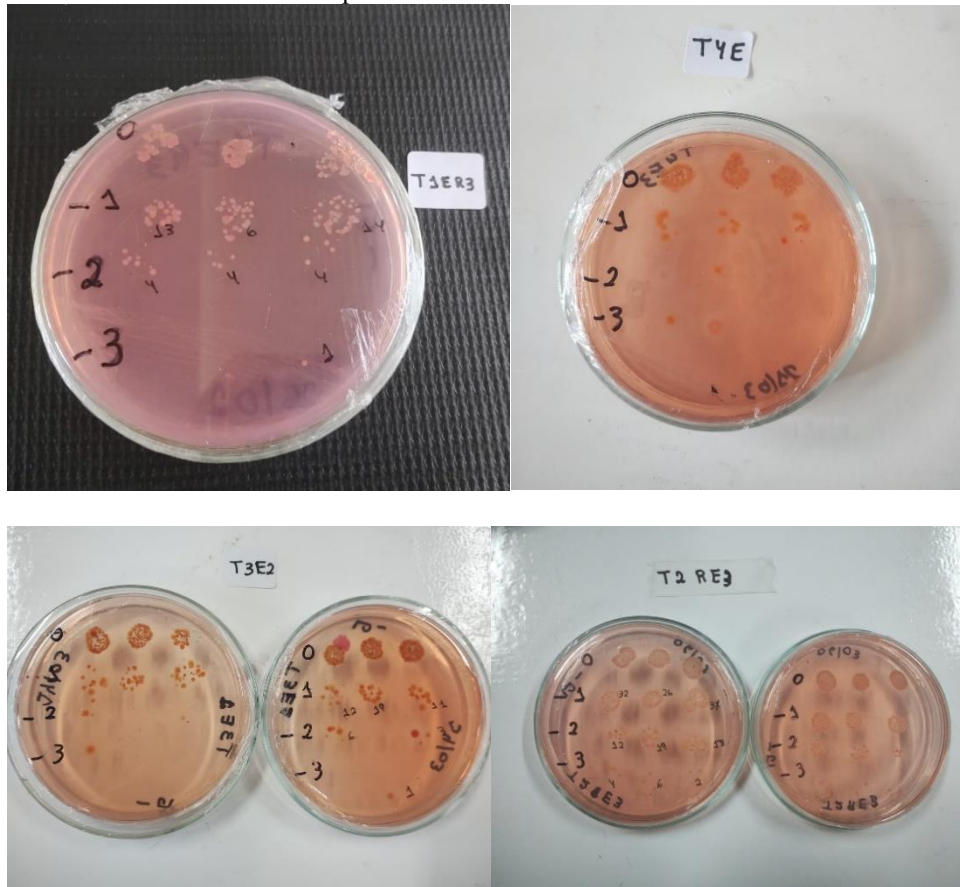
As análises microbiológicas foram realizadas pelo método da diluição seriada e plaqueamento pela técnica de microgota. A realização desse procedimento foi realizada no fluxo laminar.

O meio de cultura utilizado para realizar a inoculação das bactérias foi o meio de cultura RC, que é um meio semi-seletivo para efetuar o isolamento de *Azospirillum spp*, sendo usado o corante vermelho congo, preparado de acordo com Cáceres, 1982. Ao todo foram preparados 4 litros do meio de cultura, sendo divididos em 4 garrafas de 1 litro cada, levadas para autoclavar na temperatura de 120°C por 20 minutos. Após a esterilização do meio de cultura, foi realizado o plaqueamento com 20ml de meio por placa, em seguida levadas a geladeira em sacos de papel e armazenadas até o momento da inoculação das bactérias.

No preparo das amostras, os tratamentos 1, 2, 3 e 4 foram separados e subdivididos em: raiz principal, raiz dos estolões 1, 2 e 3, e estolões 1, 2 e 3. Esses materiais foram obtidos a partir de amostras compostas formadas pelas repetições 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Cada amostra foi submetida à maceração com o auxílio de cadinho e pistilo, utilizando 20 mL de solução salina 8% para facilitar o processo. Após a completa maceração dos tecidos, o material foi transferido para um Erlenmeyer, onde foram adicionados mais 80 mL da mesma solução salina, totalizando 100 mL. Em seguida, os frascos foram colocados em agitador orbital (Shaker) por 20 minutos, a uma rotação de 70 rpm.

As amostras foram homogeneizadas por 20 minutos no shaker a 70 rpm. Na sequência foi realizada uma diluição seriada na proporção de 1:10 até a diluição -6, sendo pipetado 1 ml da amostra e transferido para tubo de ensaio com 9 ml de salina a 8%. Na sequência, 10 microlitro de cada diluição foram plaqueados em triplicata, seguindo a metodologia da microgota. Após o preparo das placas, foram acondicionadas na estufa, onde permaneceram por 48 horas na temperatura de 28°C, ideal para o desenvolvimento das bactérias. Passando esse período foi realizado a contagem das colônias de bactérias.

Figura 6 - Colônias de bactérias e seus respectivos tratamentos.



Fonte: A autora

5.5 TESTES ESTATÍSTICOS

Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o Software R Studio, sendo utilizado: teste de análise de variância, teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos resíduos, teste de Bartlett para testar a homogeneidade de variância e o teste de Duncan para realizar a comparação de médias, com a probabilidade de 5%.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram testadas três estirpes de *Azospirillum* para avaliar o desenvolvimento e produção de mudas no cultivo de morango. Os resultados obtidos para o desenvolvimento da planta e número de mudas indicam que a inoculação com essas estirpes promoveu efeitos positivos no crescimento vegetativo e na capacidade de propagação, com variações significativas entre os tratamentos, sugerindo que a eficiência da colonização e a resposta fisiológica das plantas podem depender da estirpe utilizada.

Tabela 1 - Número de estolões na produção de mudas em morangos (*Fragaria* × *ananas*) realizados em casa de vegetação.

Tratamento	Nºestolão	Grupo
Ab-V5	26,66	a
HM053	24,66	b
Testemunha	23,00	b
Az39	17,80	c

CV%= 21,52%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

O tratamento em que foi utilizado a estirpe Ab-V5 se mostrou superior aos demais tratamentos, apresentando um maior número de estolões. Os tratamentos HM053 e a testemunha apresentaram medias iguais, já o Az39 foi o que apresentou a menor média.

Tabela 2 - Números de trifólios em morangos (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	N. trifólios	Grupo
HM053	14,50	a
Az39	14,16	a
Testemunha	13,60	a
Ab-V5	10,83	b

CV%= 31,80%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação ao número de folhas (trifólios), o tratamento com Ab-V5 apresentou a menor média, em relação aos demais tratamentos apresentaram medias iguais, não diferindo significativamente entre si. O *Azospirillum* atua na fixação do nitrogênio e produção de fitormônios, promovendo um melhor desenvolvimento vegetativo, com isso ocorrendo o aumento do número de folhas (Ferreira *et al.*, 2012). Em estudos realizados por Bubanz *et al* (2017), o uso de *Azospirillum* e a incorporação de silício, aumentou significativamente o número de trifólios nas plantas de morangueiro inoculadas (Corrêia *et al.*, 2023). Em estudos publicados por Ribeiro *et al* (2022), a estirpe HM053 + 0% de nitrogênio também apresentou o resultado mais expressivo.

Tabela 3 - Comprimento de raiz de morango (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	Comprimento raiz	Grupo
Testemunha	41,8	a
Ab-V5	38,33	b
Az39	36,5	b
HM053	32,83	c

CV%= 12,70 %

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

O comprimento da raiz na testemunha se apresentou superior aos demais tratamentos, os tratamentos com Ab-V5 e Az39 apresentaram médias iguais e o HM053 foi o que apresentou a menor média. Em estudos publicados por Andrade *et al* (2019) em morangueiro, ocorreu aumento significativo no comprimento de raiz, quando inoculado *azospirillum*+ *Enterobacter* (Andrade *et al.*,2019).

Tabela 4 - Comprimento da parte aérea da planta-mãe de morango (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	Comp. parte aérea	Grupo
HM053	15,33	a
Az39	14,83	ab
Testemunha	14,00	b
Ab-V5	12,66	c

CV%= 17,63%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação ao tamanho da parte aérea da planta-mae. A inoculação com bactérias promotoras do crescimento estimulou um maior crescimento da parte aérea. Em estudos realizados por Bubanz *et al* (2017), o uso de *Azospirillum* e a incorporação de silício, aumentou significativamente o comprimento da parte aérea nas plantas de morangueiro inoculadas (Corrêa *et al.*, 2023).

Tabela 5 - Diâmetro de copa de planta-mãe de morango (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	Médias	Grupo
HM053	18,66	a
Testemunha	18,20	a
Az39	17,33	a
Ab-V5	17,00	a

CV%= 15,36%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

O diâmetro de copa da planta-mãe em todos os tratamentos apresentaram médias iguais, não possuindo diferenças significativas entre os tratamentos. Em estudos publicados por Andrade *et al* (2019), o uso de bactérias promotora de crescimento em morangueiros aumenta crescimento da parte aérea, ocasionando maior área foliar, órgão responsável pelo metabolismo de fotoassimilados (Andrade *et al.*, 2019).

Tabela 6 - Massa fresca total de plantas e estolão de morangos (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	Médias	Grupo
HM053	76,73	a
Ab-V5	71,61	a
Testemunha	70,30	a
Az39	55,16	b

CV%= 31,23%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Para a variável massa fresca total, o tratamento com Az39 apresentou a menor média, diferindo dos demais tratamentos. O uso de bactérias promotoras de crescimento aumenta a produção de biomassa (Erturk et al.,2012; Andrade et al.,2019), conseqüentemente a massa fresca.

Tabela 7 - Massa fresca de estolão de morangos (*Fragaria x ananassa*), inoculados com diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.F. estolão	Grupo
Ab-V5	49,01	a
HM053	45,45	a
Testemunha	44,10	a
Az39	33,45	b

CV%= 29,98%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Para a massa fresca dos estolões, somente o tratamento Az39 apresentou média diferente dos demais tratamentos, sendo inferior aos demais tratamentos.

Tabela 8 - Massa fresca da raiz de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.F. raiz	Grupo
Ab-V5	15,96	a
HM053	15,80	a
Testemunha	14,83	a
Az39	10,01	a

CV%= 54,76%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação a massa fresca da raiz de morango, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas, apresentando as mesmas médias.

Tabela 9 - Massa fresca planta-mãe de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.F. planta-mãe	Grupo
HM053	11,70	a
Az39	11,70	a
Testemunha	11,36	a
Ab-V5	8,86	b

CV%= 31,19%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação a massa fresca da planta-mãe, o tratamento Ab-V5 apenas teve diferença significativa aos demais tratamentos, apresentando a menor média.

Tabela 10 - Massa seca de estolão de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.S.estolão	Grupo
Ab-V5	9,75	a
HM053	9,26	a
Testemunha	8,76	a
Az39	6,35	b

CV%= 30,21%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Na massa seca de estolão, apenas o tratamento Az39 apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos, apresentando a menor média.

Tabela 11 - Massa seca de raiz de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.S. raiz	Grupo
Testemunha	4,02	a
HM053	3,86	a
Ab-V5	2,94	b
Az39	1,76	c

CV%= 53,92%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação a massa seca da raiz, a testemunha e o tratamento HM053 apresentaram as maiores medias e apresentaram o mesmo nível de significância. O tratamento Ab-V5, apresentou media menor que os anteriores e maior que o tratamento com Az39, que apresentou a menor média. Em estudos realizados por Andrade *et al* (2019), em relação ao peso seco de raiz o melhor resultado foi obtido com a inoculação de *Azospirillum brasilense* -Ab-V5 e a co-inoculação com *Azospirillum brasilense* -Ab-V5 + *Enterobacter cloacae* -CCMA 1285, foi superior aos demais tratamentos, com aumento de 32% em relação à testemunha (Andrade *et al.*,2019).

Tabela 12 - Massa seca parte aérea de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.S. parte aérea	Grupo
HM053	3,16	a
Az39	3,15	a
Testemunha	2,58	b
Ab-V5	2,25	b

CV%= 31,38%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Na massa seca da planta-mãe os tratamentos com HM053 e Az39 apresentaram medias superiores com os mesmos níveis de significância. Já a testemunha e o tratamento Ab-V5 apresentaram medias menores com o mesmo nível de significância. Em trabalhos publicados por Andrade *et al* (2019), a inoculação de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) + *Burkholderia cepacia* (CCMA 0056), aumentou o peso de massa seca da parte aérea em morangueiro, ocorrendo aumento de 82% em relação a testemunha sem nitrogênio (Andrade *et al.*,2019).

Tabela 13 - Massa seca total de plantas e estolão de morangos (*Fragaria x ananassa*), submetido a diferentes estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum*.

Tratamento	M.S. total	Grupo
HM053	18,08	a
Testemunha	15,36	b
Ab-V5	14,46	b
Az39	11,26	c

CV%= 34,88%

Fonte: A autora

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Na massa seca total, o tratamento com HM053 foi o que apresentou a maior média diferindo dos demais, a testemunha e Ab-V5 apresentaram os mesmos níveis de significância e

tratamento com Az39 foi o que apresentou a menor média. O uso de diferentes bactérias promotoras de crescimento, com o *Azospirillum*, foi relatado e comprovado que são capazes de aumentar a produção de massa seca (Erturk et al.,2012; Andrade et al.,2019). Em estudos publicados por Andrade *et al* (2019), na ausência de nitrogênio o tratamento inoculado com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 apresentou o melhor resultado em relação a massa seca total em morangueiro (Andrade *et al.*, 2019).

Já em relação a recuperação das unidades formadas de colônias, os resultados foram os seguintes:

Tabela 14 - Recuperação de colônias de bactérias do gênero *Azospirillum* por meio de plaqueamento utilizando meio RC.

Parte	HM053	AbV5	Az39	Sb
Raiz principal	3,37 a AB	3,39 a AB	3,42 a A	3,25 a A
Raiz estolão 1	3,13 c D	3,48 a A	3,41 ab A	3,32 b A
Raiz estolão 2	3,34 ab BC	3,39 ab AB	3,45 a A	3,25 b A
Raiz estolão 3	3,51 a A	3,44 a AB	3,41 a A	3,25 b A
Estolão 1	3,10 a D	2,59 c D	2,79 b C	3,06 a B
Estolão 2	3,22 a CD	3,14 a C	3,14 a B	3,03 a BC
Estolão 3	3,13 b D	3,31 a B	3,41 a A	2,92 c C
CV =	2,60%			

Fonte: A autora

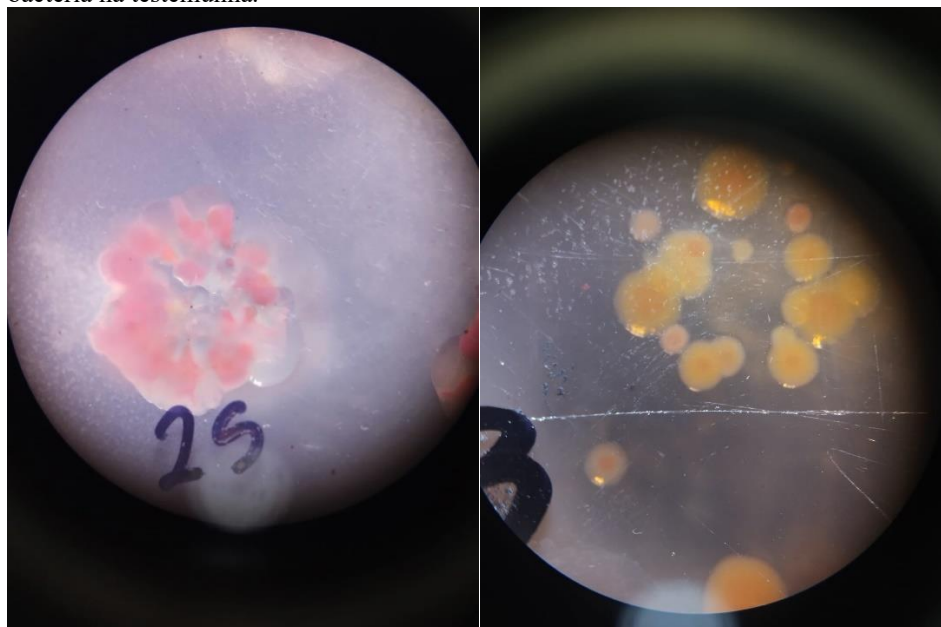
Nota: Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Na diluição 1 foi possível observar a presença de *Azospirillum* nos diferentes níveis, confirmando que passa da planta-mãe para a planta filha. O *Azospirillum* coloniza os tecidos internos e superficiais dos morangos e dos estolões, o isolamento de diversas partes da planta demonstra a natureza rizosférica e endofítica desse gênero (Baldani *et al.*,1983; Pedraza *et al.*,2007).

A diluição -2, apresentou diferenças significativas, porém somente uma das diluições são necessárias para demonstrar os resultados obtidos.

Na diluição -3, as medias em relação as diferentes estirpes não apresentou diferenças significativas, assim não sendo possível realizar o desdobramento das interações. Nas diluições -4,-5 e -6, com uma grande quantidade de medias iguais a zero, o que causa uma alta variação, apresentando valores de CV% maiores de 100%, o que leva a uma confiabilidade genética limitada.

Figura 7 - Imagem a esquerda colônias de bactérias do gênero *Azospirillum* e a direita colônia de outro gênero de bactéria na testemunha.



Fonte: O autor.

Na testemunha cresceu colônia bactéria, possivelmente de outro gênero, que já se encontravam internamente aos tecidos internos do morangueiro, que ocorrem naturalmente. Ocorrendo a distinção pela coloração das colônias de bactérias, o quais se diferem do tratamento inoculado com *Azospirillum*.

7. CONCLUSÃO

O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal, com ênfase nas bactérias fixadoras de nitrogênio, apresenta resultados positivos em relação a mudas de qualidade. Apresentando maior número de estolão e folhas, maior comprimento aéreo e radicular e maior quantidade de massa fresca e seca. Assim contribuindo com maior eficiência no processo de produção de mudas.

Foi possível observar nos resultados obtidos que as bactérias do gênero *Azospirillum*, ao ser inoculada a planta-mãe, as bactérias são transmitidas para as plantas-filhas, dessa forma o produtor obtém mudas já inoculadas, evitando fazer a inoculação nas mudas quando chegam na propriedade.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F. M.; PEREIRA, T. A.; SOUZA, T. P.; GUIMARÃES, P. H. S.; MARTINS, A. D.; SCHWAN, R. F.; PASQUAL, M.; DÓRIA, J. Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry. *Microbiological Research*, [S.l.], v. 223–225, p. 120–128, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0944501318307584?via%3Dihub>.

Acesso em: 12 maio 2025.

CORRÊIA, F. M. S.; MOTA, D. H. Desenvolvimento e produtividade do morangueiro submetido a diferentes doses de *Azospirillum brasilense*. *Revista Perquirere*, Patos de Minas, v. 20, n. 2, p. 52–60, 2023. Disponível em: <https://revistas.unipam.edu.br/index.php/perquirere>.

Acesso em: 13 maio 2025.

FERRAREZI, J.; et al. *Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field*. *Applied Soil Ecology*, [S.l.], v. 170, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0929139321004200?via%3Dihub>.

Acesso em 11 maio 2025.

FERREIRA, LV; VARGAS, DP; FORMOSO, RS; TANIGUCHI, M.; FERREIRA, LV; CORADIN, JH; DUTRA, LF Composição da matriz de encapsulamento de gemas axilares de morangueiro 'San Andreas': in vitro e sobrevivência ex vitro / Composição da matriz de encapsulamento de gemas axilares 'San Andreas': sobrevivência in vitro e ex vitro. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, [S. l.], v. 12, pág. 101851–101859, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/22123>. Acesso em: 4 maio 2025.

FERREIRA, R.; FRANCO J., K.S.; BRIGANTE, GP Aplicação de produtos biológicos em café arábica. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.], v. 17, pág. e10111738678, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/38678>. Acesso em: 11 maio 2025.

GHENOV, F.; GERHARDT, E. C. M.; HUERGO, L. F.; PEDROSA, F. O.; WASSEM, R.; SOUZA, E. M. Characterization of glutamine synthetase from the ammonium-excreting strain HM053 of *Azospirillum brasilense*. *Brazilian Journal of Biology*, v. 82, 2021.

GIMÉNEZ, G.; ANDRIOLO, J.; GODOI, R.. Cultivo sem solo do morangueiro. *Ciência Rural*, v. 38, n. 1, p. 273–279, jan. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/MztLr3hy6QRjpnYskh5LVqf/?lang=pt>. Acesso em: 11 abr. 2025.

GUERRERO-MOLINA, María F.; WINIK, Beatriz C.; PEDRAZA, Raúl O. *More than rhizosphere colonization of strawberry plants by Azospirillum brasilense*. *Applied Soil Ecology*, v. 61, p. 205–212, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0929139311002307?via%3Dihub>.

Acesso em: 4 maio 2025.

LAURETT, L.; COLOMBO, J.; ALVARENGA, I. Avaliação de diferentes composições de substratos na produção de mudas de morango fora do solo. 1 Enciclopédia Biosfera, v. 18, n. 3, p. 1-15, 2021. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2021C/avaliacao%20de%20diferentes.pdf>. Acesso em: 25 abril. 2025.

MARONICHE, G. A.; PUENTE, M. L.; GARCÍA, J. E.; MONGIARDINI, E.; CONIGLIO, A.; NIEVAS, S.; LABARTHE, M. M.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; RODRIGUEZ CÁCERES, E.; DÍAZ-ZORITA, M.; CASSÁN, F. *Phenogenetic profile and agronomic contribution of Azospirillum argentinense Az39T, a reference strain for the South American inoculant industry*. Microbiological Research, v. 283, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S094450132400051X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 maio 2025.

NUNES, G.; NOVELLO, D. MORANGO (FRAGARIA X ANANASSA DUCH): PRODUTIVIDADE, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, NUTRICIONAL E SENSORIAL. Revista Valore, [S. l.], v. 6, p. e-6002, 2021. Disponível em: <https://revistavalore.emnuvens.com.br/valore/article/view/279>. Acesso em: 12 abr. 2025.

OLIVEIRA, K. S. de; FREIRE, F. A. de M.; ALOUFA, M. A. I. *Efeito de 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético sobre a propagação in vitro de Hancornia speciosa*. Floresta, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 335–342, 2016. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/43993>. Acesso em: 4 maio 2025.

OLIVEIRA, R. P. DE.; SCIVITTARO, W. B. Produção de frutos de morango em função de diferentes períodos de vernalização das mudas. Horticultura Brasileira, v. 27, n. 1, p. 91–95, jan. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/kFSPWbgqVxgHrngXwqMypmB/?lang=pt>. Acesso em: 12 abr. 2025.

PEDRAZA, MOTOK, J., TORTORA, ML *et al.* Ocorrência natural de *Azospirillum brasilense* em morangueiros. *Plant Soil* 295, 169–178 (2007). Disponível em: <https://link-springer-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11104-007-9273-x#citeas>. Acesso em: 11 maio 2025.

Rampim, L., Rodrigues-Costa, A. C. P., Nacke, H., Klein, J., & Guimarães, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 34, n. 4, p. 678–685, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbs/a/SK8Nz3GM76CjKRgJNQGKxdw/?lang=pt>. Acesso em: 11 maio 2025.

RESCAROLLI, C. L. S.; ZAFFARI, G. R. Produção de mudas de *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm. através da cultura de tecidos vegetais in vitro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 11, n. 2, p. 190–195, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/pkC58xKvVDz79B7BhwMCGLM/?lang=pt>. Acesso em: 28 abril. 2025.

RIBEIRO, M. A.D.; et al. Eficiência das estirpes de *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e HM053 no desenvolvimento e produção de morango (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Florida Festival). In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO – EAITI. Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2022. Disponível em: <https://www.uepg.br/eaiti>. Acesso em: 13 maio 2025.

ROSA, H. T. et al. Crescimento vegetativo e produtivo de duas cultivares de morango sob épocas de plantio em ambiente subtropical. Revista Ciência Agronômica, v. 44, n. 3, p. 604–613, jul. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rca/a/kyFfsKwbVXkBRTSHyFGQLTy/?lang=pt>. Acesso em: 28 abril. 2025.

SANTOS, A. R. S.; ETTO, R. M.; FURMAM, R. W.; DE FREITAS, D. L.; SANTOS, K. F. D. E. N.; DE SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; AYUB, R. A.; STEFFENS, M. B. R.; GALVÃO, C. W. Labeled *Azospirillum brasilense* wild type and excretion-ammonium strains in association with barley roots. Plant Physiology and Biochemistry, v. 118, p. 422-426, 2017.

SCHIAVON, A; DELAZERI, E; BECKER, T; VIZZOTTO, M; CANTILLANO, R; ANTUNES, L. Qualidade físico-química de morangos produzidos em sistema de cultivo sem solo, a partir de mudas produzidas com diferentes soluções nutritivas. *Scientific Electronic Archives*, v. 14, n.7, p.37–44, 2021. Disponível em: <https://scientificelectronicarchives.org/index.php/SEA/article/view/1316>. Acesso em: 25 abril. 2025.

SCHMITT, O. J. et al. Produção de estolhos de cultivares de morangueiro em função da condutividade elétrica da solução nutritiva. Horticultura Brasileira, v. 34, n. 2, p. 294–301, abr. 2016. Acesso em: 25 mar. 2025.

SILVA, M. L. S.; RESENDE, J. T. V.; TREVIZAM, A. R.; FIGUEIREDO, A. S. T.; SCHWARZ, K. Influência do silício na produção e qualidade de frutos de morango. Semina: Ciências Agrárias, [S. l.], v. 6Supl1, pág. 3411–3424, 2013. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/12729>. Acesso em: 28 abril. 2025.

SOUSA, G. G. DE. et al. Fertirrigação potássica na cultura do morango no litoral Cearense. Bragantia, v. 73, n. 1, p. 39–44, jan. 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/KBRw7LPXvnXztK6hrWGppxL/?lang=pt>. Acesso em: 28 abril. 2025.

SOUZA, A. K. de M.; OLIVEIRA, H. F. A. de; SOUZA, K. F. F. da S.; DIAS, M. S. C.; PIMENTA, S.; LONDE, L. C. N. Avaliação no desenvolvimento de brotação e enraizamento do morango in vitro submetidos à interação entre diferentes doses de AIA E GA3. Caderno Pedagógico, [S. l.], v. 21, n. 8, p. e7272, 2024. Disponível em: <https://ojs.studiespublicacoes.com.br/ojs/index.php/cadped/article/view/7272>. Acesso em: 28 abril. 2025.

TAKAHASHI, W. Y.; GALVÃO, C. W.; CASSÁN, F. D.; URREA-VALENCIA, S.; STREME, A. C.; STETS, M. I.; KREMER, M. A. S.; JESUS, E. C.; ETTO, R. M. Tracking maize colonization and growth promotion by *Azospirillum* reveals strain-specific behavior and the influence of inoculation method. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 215, 2024. Disponível em:

[https://www.sciencedirect-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0981942824006478?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0981942824006478?via%3Dihub).

Acesso em: 11 maio.2025.

TESSARIOLI NETO, J.; ORTIGOZA, L. E. R.; VERDIAL, M. F. Produção de mudas de cultivares de morangueiro em duas épocas de coleta. *Horticultura Brasileira*, v. 21, n. 2, p. 231–233, abr. 2003. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/hb/a/fBWChRwN9DdmCM3RzjMhZLc/?lang=pt>. Acesso em: 25 mar.

2025.

VERDIAL, M. F. et al. Vernalização em cinco cultivares de morangueiro. *Ciência Rural*, v. 37, n. 4, p. 976–981, jul. 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/Wgex5G7xSwjH3WbwfNKffzK/?lang=pt>. Acesso em: 25 abril.

2025.

YURI, J. E. et al. Cultivo de morangueiro sob diferentes tipos de mulching. *Horticultura Brasileira*, v. 30, n. 3, p. 424–427, jul. 2012. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/hb/a/trRmtrMbMDrNwK8cZwkMjGS/?lang=pt>. Acesso em: 13 abril.

2025.